

乳酸醗酵野菜を利用したソースの開発

三枝 弘育

キーワード：ソース，乳酸醗酵野菜，乳酸菌，繊維質分解酵素

緒 言

ソースは、イギリスのウスターシャー地方でいわゆる醗酵物に野菜を加えたものがその発祥といわれているが、現在わが国で製造されるソースとはかなり異なるものである。日本の「農林物資の規格化及び品質表示の適正化に関する法律」(JAS法)で規格されているウスターソース類は、通常野菜を煮熟したスープエキスを主原料として作られており、製造中に醗酵工程は行っていない。

一方、野菜類を乳酸醗酵させた食品は、日本では、野沢菜、すんき漬けなどの漬物、韓国ではキムチ、ドイツではキャベツを利用したザウアークラウト(Sour Kraut)などが有名である。また、最近では、消費者の健康志向の中で野菜を乳酸醗酵させた飲料やヨーグルト様食品などが発売されており、乳酸菌の菌体のみならず醗酵産物が有する生理機能性に着目した商品の開発が多く見られる。

本研究では、タマネギ、ニンジン、セロリなどの生野菜液に繊維質分解酵素と乳酸菌を接種した乳酸醗酵を併用し、風味の向上を図った新たなソースの開発を試みた。

材料および方法

1. 原料野菜類の乳酸醗酵試験

供試した野菜は生のタマネギ、ニンジン、セロリ、アシタバ葉、アシタバ葉柄の5種類で、これらの野菜をフードカッターで5分間粉碎したものを野菜液とした。乳酸菌の接種方法は、野菜液100gに対して 10^9 cfu/mLに調製した乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* (協和ハイフーズ社製 LP115) の滅菌蒸留水懸濁液 1 mLを接種した (10^7 cfu/mL)。乳酸菌接種後は、室温 (20~25°C) に静置した。乳酸醗酵の進行状況は、

接種日を基点日として経時的に最長54日目までのpH、乳酸菌数、有機酸量、遊離アミノ酸量を測定し判定した。pHは、複合電極を室温下で混合野菜液に直接挿入し測定した。乳酸菌数はMRS培地による混釈培養法により30°C、48時間培養後、発生したコロニーを乳酸菌として測定した。有機酸量は、野菜ろ過液を蒸留水で1,000倍に希釈した後、孔径0.45 μ mのメンブレンフィルターを通過させたものを試料として、キャピラリー電気泳動装置 (アジレント社製 G1600A) により、コハク酸、リンゴ酸、酢酸、乳酸の4種類について測定した。遊離アミノ酸量は、野菜ろ過液に10%トリクロロ酢酸 (TCA) を等量加え攪拌し室温に60分間静置後、3,000回転15分間遠心分離を行い上澄液を孔径0.45 μ mのメンブレンフィルターを通過させたものを試料として、アミノ酸自動分析装置 (日立社製 L8500) により測定した。

2. 乳酸醗酵工程を加えた野菜入りソースの製造

図1に示す製造工程に沿って乳酸醗酵工程を加えた野菜入りソースを作成した。

タマネギ、ニンジン、セロリ、ショウガ、ニンニクをフードカッターで5分間粉碎し、生ソース製造レシピにしたがって配合したものを混合野菜液として表1に示した試験区を設け試験を行った。

この野菜液にアシタバ葉、アシタバ葉柄を加えたものと加えないもの、さらに乳酸醗酵の促進効果の有無を調べるために、繊維質分解酵素 (セルラーゼ、ペクチナーゼ: アmano社製) を0.1% (w/w) 加えた試験区を設けた。

原料野菜類の乳酸醗酵試験での乳酸菌増殖が良好であったニンジンをを用いた乳酸菌スターターの製造は、 10^9 cfu/mLに調製した乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* (協和ハイフーズ社製LP115) のけんだく液 1 mLをニンジン100 g (フードカッターで5分間粉

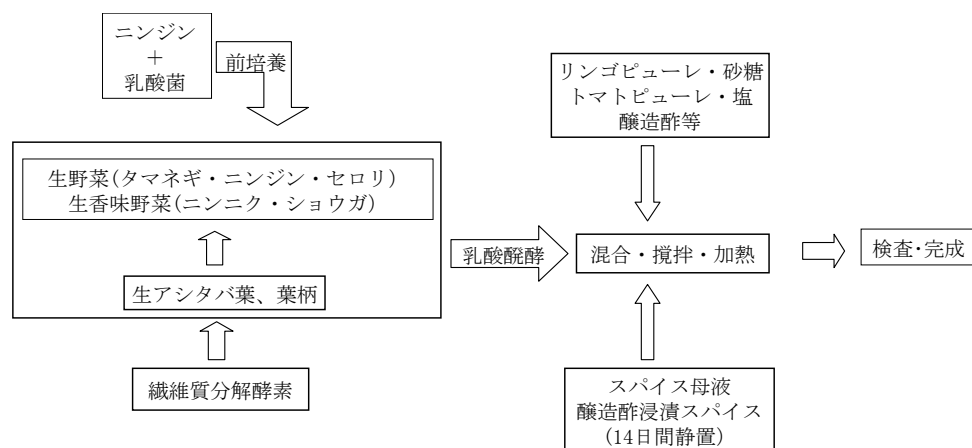


図1 ソース製造のフローチャート

表1 ソース製造の基本的組み合わせ

	A	B	C	D	E	F
混合野菜液*1	○	○	○	○	○	○
乳酸菌*2	○	○	○	○	○	○
酵素 (セルラーゼ・ペクチナーゼ)	○	—	○	—	○	—
アスタバ葉	—	—	○	○	—	—
アスタバ葉柄	—	—	—	—	○	○

○：配合 —：未配合

*1：タマネギ，ニンジン，セロリ，ニンニク，ショウガ

*2：Lactobacillus plantarum (協和ハイフーズ LP115)

碎)に接種し，室温(20～25℃)に静置後，2日後にpH値が3.7まで低下したことを確認してスターターの完成とした。

それぞれの混合野菜液に醸造酢(キューピー醸造社製15%)を加え，pHを4.0にそろえた後，野菜液100gに対して10⁹cfu/gに調製した上記の乳酸菌スターターを1g接種し，2日間室温静置したものを混合野菜の母液とした。一方，醸造酢にスパイス(生ソースに使用する全種類)を14日間浸漬させた抽出液を作り，その上澄液をスパイス母液とした。

これら2つの母液を生ソースの製造比率にしたがって混合した後，リンゴピューレ，トマトピューレ，砂糖，塩，醸造酢を加えて加熱(90℃，40分)し，攪拌しながら溶解させたものを「乳酸醗酵野菜入りソース」とした。

乳酸菌数，pH，有機酸量，遊離アミノ酸量について1，2，4，7，11および23日目に，既述の方法と同

様に測定した。

分解率の測定は，乳酸醗酵野菜母液を遠心分離後，固形分の減少量を百分比で示した。すなわち酵素分解前の固形容量(C)と酵素分解後の固形容量(T)から遠心後沈殿した固形分容量を測定し，以下の計算式から求めた。

$$\text{分解率} = (C - T) / C \times 100 \quad (\%)$$

官能検査は東京都立食品技術センター業種別研究会(ソース研究会)の会員10名の自由討論形式で，評価を行った。

実験結果および考察

1. 原料野菜類の乳酸醗酵試験

各種野菜を混合した乳酸醗酵ソースを製造するにあたり，各野菜における乳酸菌接種後の乳酸菌数の変化を調べる目的で，野菜単独(タマネギ，ニンジン，セ

ロリ、アシタバの葉と葉柄)での乳酸醗酵試験を実施した。

1) 乳酸菌数の変化

乳酸菌数は、乳酸菌接種後にすべての野菜で急速に増加し、接種後2日目には、 10^8cfu/g ~ 10^9cfu/g レベルまで増加していることがわかった。その後減少し、タマネギ、ニンジン、アシタバ葉柄では50日までに 300cfu/g 以下になった。しかし、セロリとアシタバ葉では乳酸菌数の減少は緩慢で約2ヶ月後でも 10^5cfu/g ~ 10^7cfu/g を推移していた(図2)。

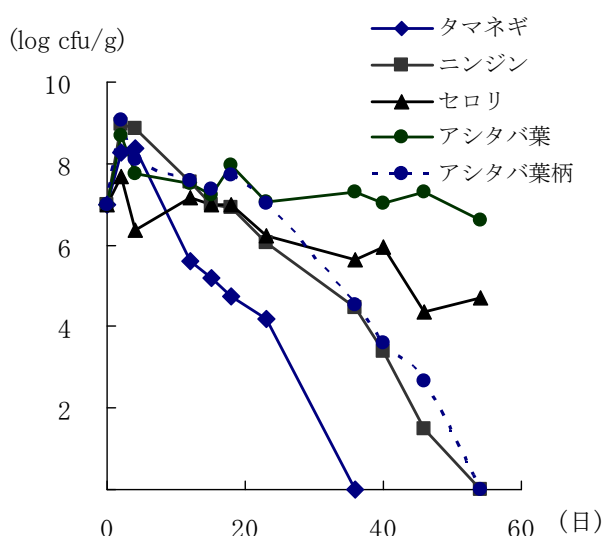


図2 乳酸菌接種後の乳酸菌濃度の経日変化
室温(20~25°C)静置

2) pH値の変化

各野菜の乳酸菌を接種する前のpH値はタマネギで4.4と最も低く、ニンジンで5.7と最も高く、他の野菜は5.3から5.7の間にあった(図3)。アシタバは、葉では5.4、葉柄では4.9となり、0.5ポイントの差が認められた。

乳酸菌接種後のpH値変化は、2日目には、すべての野菜で3.4~3.7と急激に下降したが、その後は緩やかに下降し10日目で3.2前後となり、それ以後の変動は非常に少なかった。このようなpH値の下降は、他の菌の増殖抑制につながり、野菜液の保存上また、ソース製造にとっては大変好ましいと考えられた。

アシタバ葉での乳酸菌数は、 10^8cfu/g レベルにあるが、pH値は3.7付近で推移しており、他の野菜のよう

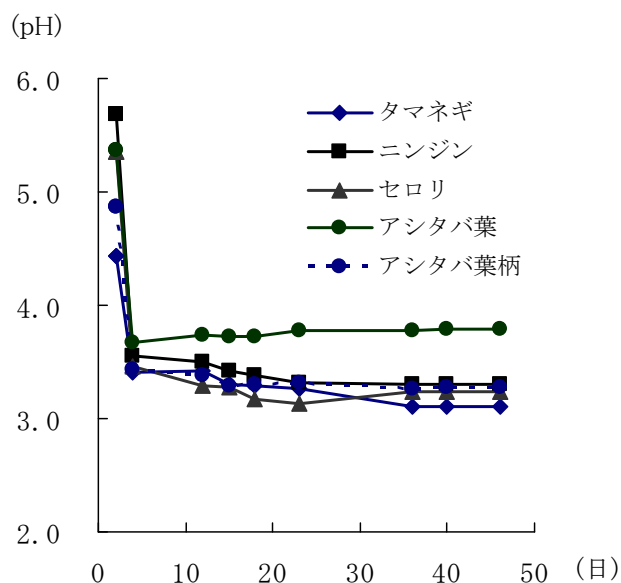


図3 乳酸菌接種後のpH値の経日変化

にpH値が3.4付近まで下降しなかった。これは、アシタバ葉の成分中あるいは分解産物中に、何らかの緩衝作用物質などが存在するか、あるいは生成するからではないかと推察された。

3) 有機酸量の変化

有機酸については、各野菜とも乳酸量が急激に増加した後は、経時的に大きな変動は見られなかった。乳酸、酢酸及びコハク酸が産生され、量的には乳酸が圧倒的に多かった。これは*L. plantarum*がホモ型の乳酸菌であったためと考えられる。

個々の野菜について見ると、ニンジンでの生成量が最も多く、各野菜間で濃度差が見られた。ニンジンとセロリとの乳酸生成量の差は約2倍であった。各野菜とも20日目以降は、経時的に大きな変動は見られなかった(図4)。

4) 遊離アミノ酸量の変化

遊離アミノ酸量については、経時変化はほとんど見られなかった(図5)。最も多いアシタバ葉で、 $144.6\text{mg}/100\text{g}$ 、最も少なかったのは、アシタバ葉柄の $18.1\text{mg}/100\text{g}$ であった。

以上のことから、「1. 原料野菜類の乳酸醗酵試験」による各野菜の乳酸醗酵特性を踏まえ、乳酸醗酵工程を加えた野菜入りソースの製造試験を実施した。

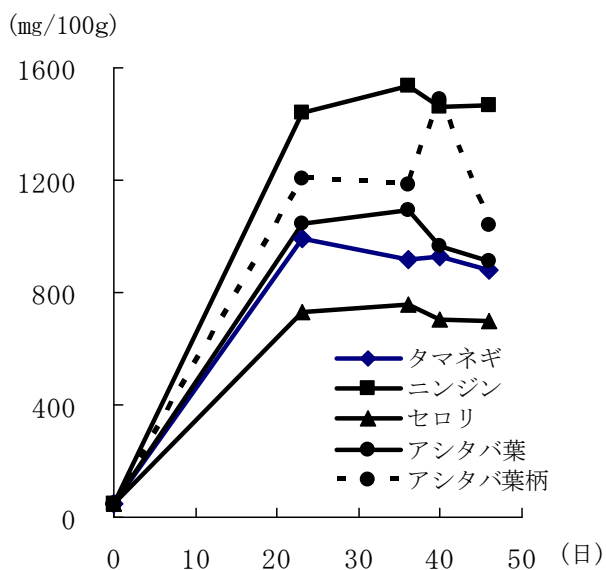


図4 乳酸菌接種後の乳酸量の経日変化

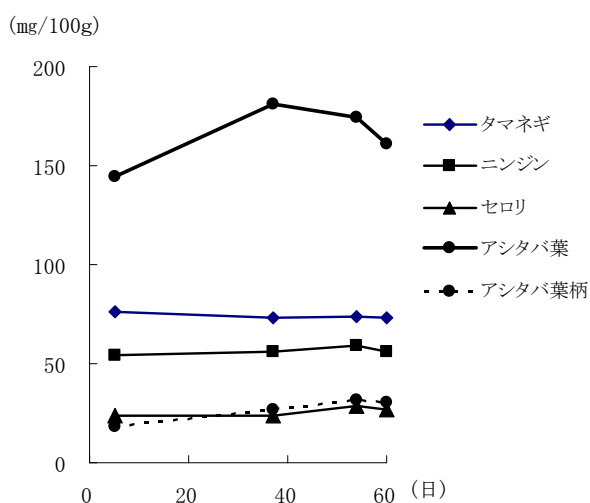


図5 乳酸菌接種後の遊離アミノ酸量の経日変化

2. 乳酸醗酵工程を加えた野菜入りソースの製造

5種類の生野菜(タマネギ, ニンジン, セロリ, アシタバ葉, アシタバ葉柄)に味を特徴付けるニンニクおよびショウガを混合した野菜液を調製し, セルラーゼ, ペクチナーゼを添加して乳酸醗酵を行ったのち, トマトピューレ, リンゴピューレ, 砂糖, 塩および醸造酢を加えて加熱熟成させて乳酸醗酵野菜入りソースを製造した(表1)。

1) 乳酸菌数の変化

乳酸菌数については, 図6に示すように, 混合野菜液においても, 個々の野菜で行なった結果とほぼ同様な傾向であった。 10^7 cfu/gの菌を接種したところ, セル

ラーゼ, ペクチナーゼを添加した試験区のA, C, Eの平均値では, 2日目の乳酸菌数が 10^8 cfu/gであり, 未添加区の平均値の 10^7 cfu/gに対して有意に高かった。これは繊維質分解酵素によって乳酸菌が利用できる糖類が生成されたことに起因しているものと推察され, 酵素添加によって乳酸菌の発育が促進されることが明らかになった。

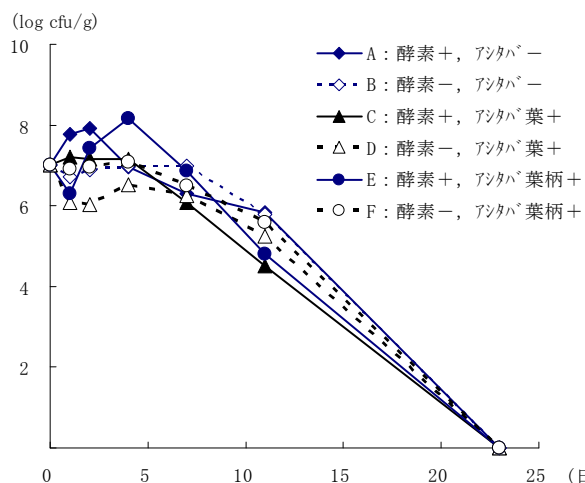


図6 混合野菜に乳酸菌を接種した際の乳酸菌数の経日変化
酵素: セルラーゼ・ペクチナーゼ

一方, 乳酸菌数は, 混合野菜液では野菜单品で接種した場合の 10^8 cfu/g~ 10^9 cfu/gと比較すると乳酸菌数は低かった。これは, 野菜を混合することで生育抑制が生じるのか, ショウガやニンニクが持つ抗菌作用のためではないかと考えている。

しかし, 後述にもあるが乳酸量は十分に産生されていること, pHも低下していることから乳酸醗酵は順調に進んでいると判断した。

以上の結果から, 野菜单品ごとに乳酸醗酵を行って混合するのではなく, ソースに使用する野菜をあらかじめ混合したものに酵素を添加し, 乳酸醗酵を行っても全く問題ないと判断した。

2) pH値の変化

図7に示すように, 乳酸菌接種後すべての試験区でpH値は急激に低下し, 4日目に3.2前後まで下がった後, ほとんど変化なく推移した。この傾向は, 野菜を単品で行なったときとまったく同じであった。

酵素を添加した試験区A, C, EのpH値の平均値は,

未添加の試験区の平均値に比べて低かった。これは酵素により、乳酸菌が利用できる糖成分が生成されたため、乳酸の産生量が多くなったと思われる。また、アシタバ葉や葉柄を加えた場合、基本の野菜液よりもpH値は高くなった。これはアシタバの葉のみで乳酸醗酵させた場合と同様な結果であり、アシタバの葉や葉柄には、pHの緩衝作用物質が含まれるものと思われる。

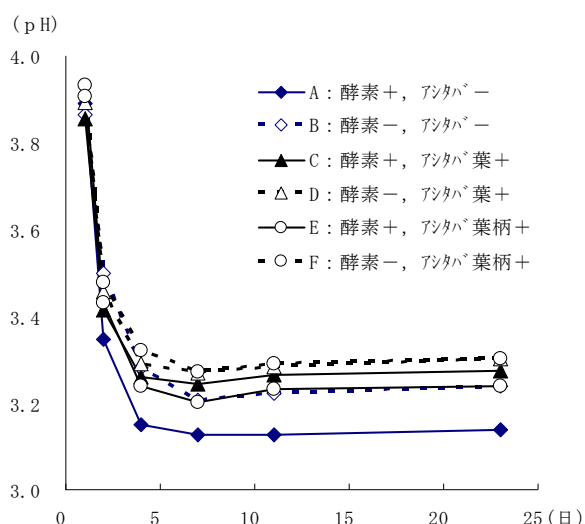


図7 混合野菜に乳酸菌を接種した際のpH値の経日変化
酵素：セルラーゼ・ペクチナーゼ

3) 有機酸量の変化

前述の野菜単品のとくと同様に乳酸と酢酸が生成された。そのうち、乳酸の生成量の経時変化を図8に示す。乳酸濃度は、いずれの試験区も乳酸菌接種後2日目に1000mg/100gを越えるまで増加し、4日目には1500mg/100gまでに、7日目以降ではさらに2000mg/100g前後に達した。各野菜単品に乳酸菌を接種した場合は最大で1500mg/100g前後の乳酸生成であったのに対して、混合することで2000mg/100gを越える乳酸が生成された。

酵素を添加した試験区では、無添加区に比べ乳酸量濃度がすべての期間で高かった。これは酵素によって乳酸菌が利用できる糖類が産生されたことも一因ではないかと考えている。また、アシタバ葉を加えた試験区の乳酸生成量は多く、4日目に2000mg/100gを越えていた。

乳酸量とpH値の相関係数は $r=-0.915$ ($p<0.01$) であり、高い負の相関関係があったことから、pH値の推移を追えば、生成される乳酸量を推定することができ、醗酵の状態を知る手がかりになるものと推察した。

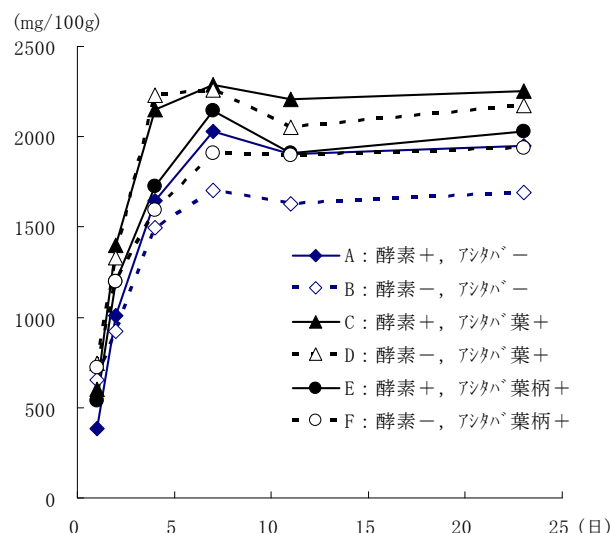


図8 混合野菜に乳酸菌を接種した際の乳酸量の経日変化
酵素：セルラーゼ・ペクチナーゼ

4) アミノ酸量の変化

アミノ酸生成量の推移を測定した結果、野菜を単品で乳酸醗酵を行ったときよりも、混合して乳酸醗酵を行った場合の方が、アミノ酸生成量は増加していた(図5, 9)。

また、いずれの試験区も2日目でいったんアミノ酸量は減少し、その後、暫増傾向にあった。混合野菜の酵素未添加区では、100mg/100g前後で推移していたが、アシタバの葉と酵素を添加して乳酸醗酵を行った場合では、250~340mg/100gと増加傾向にあった。このように酵素を添加することによって、アミノ酸が多く生成する要因としては、酵素添加によって乳酸菌生存環境が整調されたためではないかと考えている。

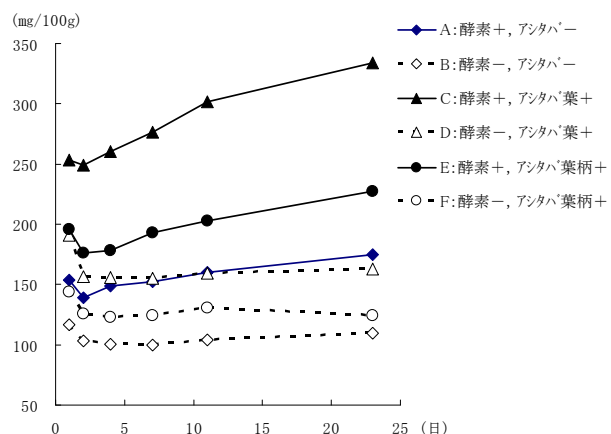


図9 混合野菜に乳酸菌を接種した際のアミノ酸量の経日変化
酵素：セルラーゼ・ペクチナーゼ

5) 分解率

乳酸菌の接種と同時に繊維質分解酵素（ペクチナーゼとセルラーゼ）を添加した試験区A, C, Eの分解率を見たところ、添加後1日目にはすでに70%を越えており、4日目には80%前後までになっていた(図10)。この分解率については以前に開発した通常の生ソースの製造時の値と同様であった。

酵素添加区では、乳酸菌の増加に伴いpH値が3.5付近まで低下するが、使用している酵素の至適pH値は3.0～5.0付近であるためまったく問題なく分解が進んだ。

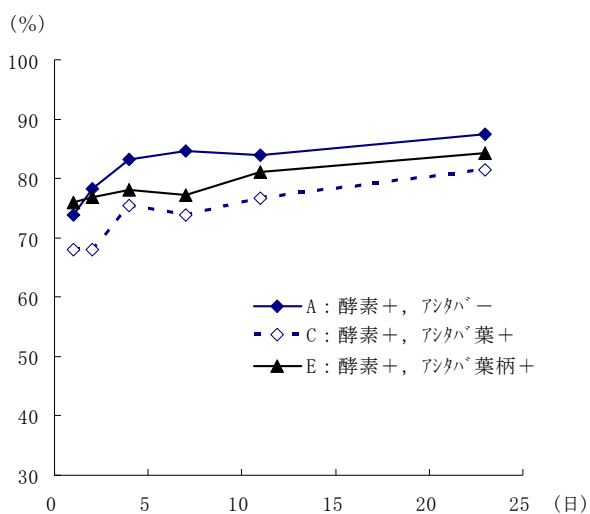


図10 混合野菜に乳酸菌を接種した際の分解率の経日変化
酵素：セルラーゼ，ペクチナーゼ

6) 完成ソースの官能評価

試作した乳酸醗酵野菜入りソースの官能評価を行ったところ結果は良好であり、現在市販されている生ソースと比べても遜色がなかった。さらに、繊維質分解酵素を添加した通常の生ソースは、添加しなかった場合のソースに比べて、ざらついた触感が消え優れていた。また、アシタバの葉や葉柄を原材料にした場合では苦味や土臭みが残るなど風味上問題が生じるため、使用するに当たっては何らかの対策が必要であると判断した。

以上のことから、乳酸醗酵野菜入りソースは、繊維質分解酵素と乳酸醗酵を併用した製法を行うことで、野菜の成分抽出が加熱以外で行うことができ、官能的なざらつきがなくなり、製造後の残渣物がまったく出なかった。

謝 辞

今回の試験の一部は東京都立食品技術センター業種別研究会のひとつであるソース研究会において、東京都ソース工業協同組合と共同で行なった。ここに東京都ソース工業協同組合のソース研究会部会の皆様と青年部会の皆様にお礼を申し上げる。

要 約

風味に優れた乳酸醗酵野菜入りソースを新たに開発した。

製造方法の概略は、野菜（タマネギ，ニンジン，セロリ，ショウガ，ニンニク）を粉碎・混合した野菜液に乳酸菌（*Lactobacillus plantarum*）を接種するとともに繊維質分解酵素（セルラーゼ，ペクチナーゼ）を添加して攪拌し、室温に静置して2日間醗酵させたのち、香辛料を醸造酢に浸漬して得られた抽出液とトマトピューレ，リンゴピューレ，塩，砂糖を加え加熱熟成させるものである。

上記の混合野菜液の乳酸醗酵状態は、各野菜を乳酸醗酵させた場合と比較して乳酸菌数の最高値は低かったが、乳酸生成量は増加した。

また、酵素を添加することにより、混合野菜液の乳酸菌数と乳酸生成量は、未添加区のそれらと比べて増加したが、官能的评价では酵素添加と未添加で大きな違いはなかった。

アシタバの葉および葉柄を混合野菜液に添加した場合は、苦味が残り評価は悪かった。

引用文献

- 雪印乳業健康生活研究所・小崎道雄 編著 (1996) 乳酸醗酵の文化譜．中央法規
- 深谷哲也・坂本秀樹 (1994) ウスターソース類の製造方法．公開特許公報 (A) 特開平6-125745
- 足立由郎・横田徹也・村岡明高 (1982) ウスターソース類の母液の製造方法．公開特許公報 (A) 昭57-54576
- 三枝弘育・宮尾茂雄 (1993) 生ソースの製造方法について．東京都食品技術センター研究報告 平成4年度 2:9-16

Summary

Hiroyasu Saegusa(2008) : Development of a sauce containing non-heat-treated vegetable mixture fermented with a lactic acid bacterium in the presence of fiber degradation enzyme

Key words : sauce, fermented vegetable, lactic acid bacterium, *Lactobacillus plantarum*, fiber degradation enzyme

A sauce containing vegetables fermented with *Lactobacillus plantarum* was newly developed. To process it, a non heat-treated vegetable mixture containing carrots, onions, celery, garlic, and ginger was fermented with *L. plantarum* (1.0×10^7 cfu/g when starting) for 2 days at room temperature in the presence of cellulase and pectinase. Next, an extract of spices immersed in vinegar, sugar, salt, tomato puree and apple puree for 14 days were mixed with the fermented vegetables, and finally heat-treated at 90°C for 30 min for pasteurization. By the addition of fiber degradation enzyme (cellulase and pectinase), the growth of *L. plantarum* and production of lactic acid were enhanced. The degree of roughness of the final product decreased in organoleptic evaluation. When the leaf or stem of ashitaba (*Angelica keiskei*), an endemic plant in Tokyo, was added to the vegetable mixture, the bitterness of the final source product was enhanced.